

UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE - N° 86

(Travail des Laboratoires de Chimie organique et de Pathologie générale
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon)

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA STÉRILISATION DES PLANTES FRAICHES

RECHERCHES

SUR LA

**Conservation des propriétés antiscorbutiques
de l'herbe d'orge**

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

(SECTION DE PHARMACIE)

Présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

Le 12 juillet 1921

PAR

L. THEVENON

Pharmacien de 1^{re} classe

(Chimiste-analyste diplômé de l'Institut Pasteur de Paris)

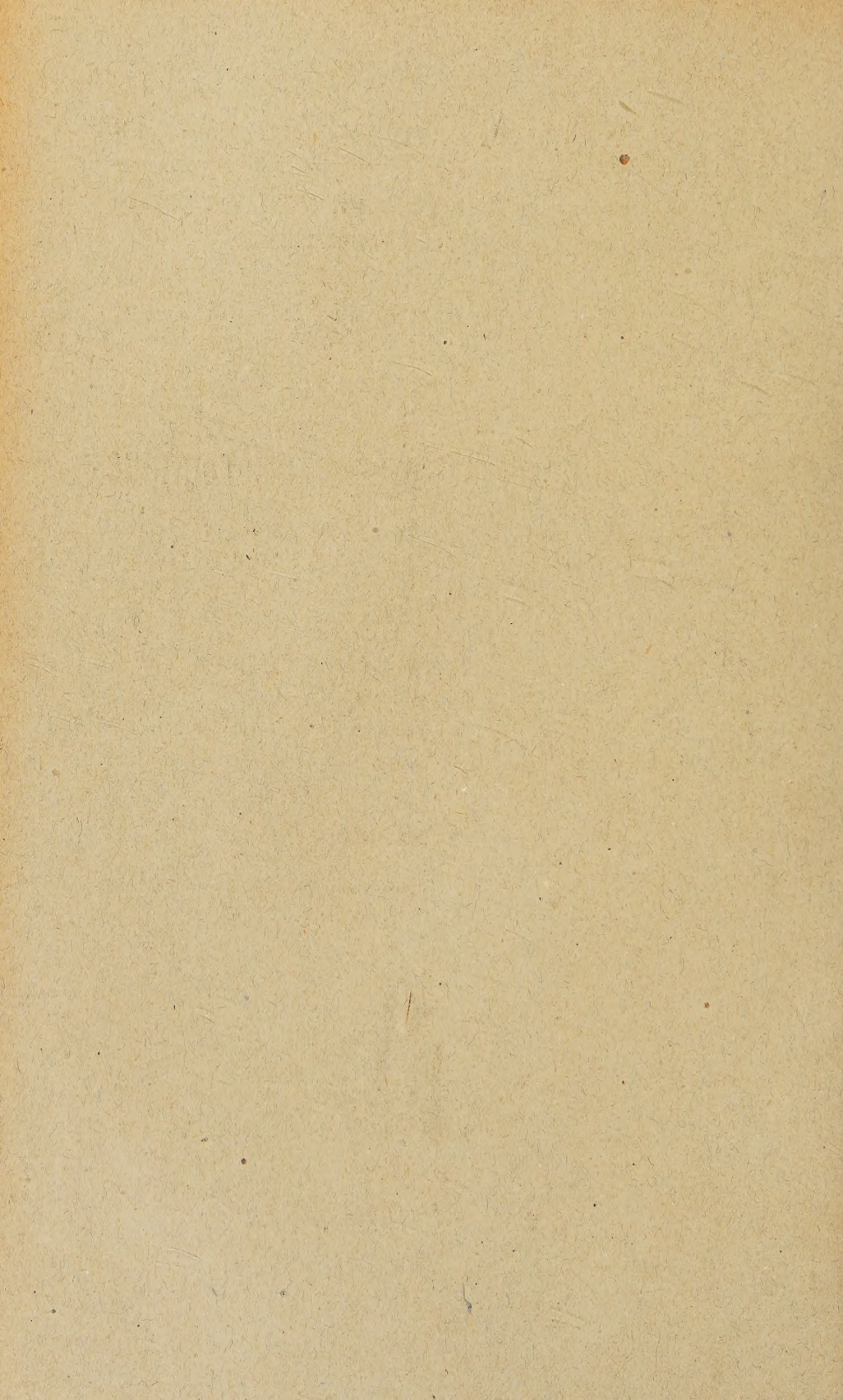
Né à Lyon, le 17 Août 1876



LYON
IMPRIMERIE EXPRESS

46, RUE DE LA CHARITÉ, 46

1921



(Travail des Laboratoires de Chimie organique et de Pathologie générale
de la Faculté de Médecine et Pharmacie de Lyon)

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA STÉRILISATION DES PLANTES FRAICHES

RECHERCHES

SUR LA

Conservation des propriétés antiscorbutiques
de l'herbe d'orge

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen honoraire.....	M. HUGOUNENO.
Doyen	MM. J. LEPINE.
Assesseur	ROQUE.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. AUGAGNEUR, SOULIER, CAZENEUVE, BEAUVISAGE,
LACASSAGNE, TESTUT.

PROFESSEURS

Cliniques médicales	MM. TEISSIER
Cliniques chirurgicales	ROQUE
Clinique obstétricale et Accouchements.....	BARD
Clinique ophtalmologique	TIXIER
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....	BERARD
Clinique neurologique et psychiatrique.....	X...
Clinique des maladies des enfants.....	ROLLET
Clinique des maladies des femmes.....	NICOLAS
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	LEPINE (J.)
Clinique des maladies des voies urinaires.....	WEILL
Clinique chirurgicale des maladies des enfants.....	POLLOSSON (A.)
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie.....	LANNOIS
Chimie biologique	ROCHET
Chimie organique et Toxicologie.....	NOVE-JOSSERAND
Matière médicale et Botanique.....	CLUZET
Parasitologie et Histoire naturelle médicale.....	HUGOUNENO
Anatomie	MOREL
Anatomie générale et Histologie.....	MOREAU
Physiologie	GUIART
Pathologie interne	LATARJET
Pathologie et Thérapeutique générales.....	POLICARD
Anatomie pathologique	DOYON
Médecine opératoire	COLLET
Médecine expérimentale et comparée.....	MOURIQUAND
Médecine légale	PIAVOT
Hygiène	VILLARD
Thérapeutique	ARLONG (F.)
Pharmacologie	Etienne MARTIN
	COURMONT (P.)
	PIC
	FLORENCE (A.)

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Chargé d'un cours de Pathologie externe.....	VALLAS
— — — Propédeutique de gynécologie.....	CONDAMIN
— — — Chimie minérale.....	BARRAL
— — — Accouchements	COMMANDEUR
— — — Urologie	GAYET

CHARGES DE COURS COMPLEMENTAIRES

Embryologie	HOVELACQUE
Anatomie topographique.....	PATEL
Botanique	BRETIN
Stomatologie	TELLIER

AGREGES

MM.	MM.	MM.	MM.
NOGIER	SAVY	HOVELACQUE	ROUBIER
BRETIN	FROMENT	TRILLAT	FAVRE
LERICHE	THEVENOT (Lucien)	SARVONAT	MURARD
THEVENOT (Léon)	PIERY	FLORENCE (G.)	BONNET
TAVERNIER	COTTE	ROCHAIX	GRAVIER, chargé des
CADE	DUROUX	CORDIER	fonctions.
GARIN			

M. BAYLE, secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THESE

M. MOREL, *Président*; M. MOURIQUAND, *Assesseur*;

MM. BRETIN et FLORENCE (G.), *Agrégés*.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE - N° 86

(Travail des Laboratoires de Chimie organique et de Pathologie générale
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon)

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA STÉRILISATION DES PLANTES FRAICHES

RECHERCHES

SUR LA

**Conservation des propriétés antiscorbutiques
de l'herbe d'orge**

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

(SECTION DE PHARMACIE)

Présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

Le 12 juillet 1921

PAR

L. THEVENON

Pharmacien de 1^{re} classe

(Chimiste-analyste diplômé de l'Institut Pasteur de Paris)

Né à Lyon, le 17 Août 1876



LYON

IMPRIMERIE EXPRESS

46, RUE DE LA CHARITÉ, 46

1921





Digitized by the Internet Archive
in 2026

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA MÈRE

A MA SŒUR

A MA FAMILLE

A MONSIEUR LE PROFESSEUR ALBERT MOREL

Professeur de Chimie organique et Toxicologie

Chevalier de la Légion d'honneur

Qui nous a inspiré ce travail effectué sous sa bienveillante direction dans son laboratoire. Qu'il veuille bien recevoir ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR MOURIQUAND

Professeur de Pathologie et Thérapeutique générales

Médecin des Hôpitaux

Chevalier de la Légion d'honneur

Qui a bien voulu s'intéresser à nos expériences et nous prodiguer ses bienveillants conseils. Nous le prions d'agréer l'assurance de notre vive gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ BRETIN

Qui a bien voulu nous faire part de ses conseils. Nous le prions d'agréer l'assurance de notre sincère reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ ROCHAIX

Chevalier de la Légion d'honneur

Pour l'intérêt qu'il a toujours porté à nos travaux. Qu'il veuille bien croire, avec nos vifs remerciements, à l'assurance de notre entière considération.

INTRODUCTION

Les modifications éprouvées par les plantes sèches au point de vue pharmaco-dynamique ont attiré de tous temps l'attention des divers pharmacologues, qui ont signalé l'inactivité ou l'atténuation de l'activité des végétaux secs et, pour cette raison, recommandé l'utilisation des plantes fraîches pour la préparation des médicaments.

Les préparations végétales idéales devraient donc être celles, qui correspondraient à l'expression de Van Helmont : « Les vertus des plantes, écrivait-il, sont leurs facultés vitales ; on ne saurait trop respecter l'état naturel des simples quand il s'agit de leur donner une forme pharmaceutique. La chaleur détruit les tissus végétaux, altère leurs sucs et affaiblit leurs propriétés par une sorte de castration. Il faut éviter les lavages, les pulvérisations et les mélanges, mais surtout l'ébullition et la calcination. »

La préparation des alcoolatures était un moyen de conservation des principes actifs des sucs végétaux.

Puis, la lixiviation des substances végétales avec un alcool à titre approprié, l'emploi du vide par la concentration permettant mieux d'épuiser la drogue et d'éviter

l'action nuisible de la chaleur donnèrent des résultats appréciables, le produit ayant subi une altération moindre.

Les travaux de Bourquelot et ceux de Bertrand sur les actions diastasiques vinrent jeter un jour nouveau sur la constitution intime de l'élément cellulaire végétal ; la découverte des ferments solubles jouissant de propriétés actives modificatrices dans la plante fraîchement cueillie ou desséchée lentement furent mis à profit par M. le professeur Bourquelot pour montrer le rôle joué par ces principes.

Ce fut l'origine du procédé dû à Bourquelot consistant dans la destruction par l'alcool à 90° bouillant des divers ferments : hydrolysants et oxydants contenus dans les végétaux, qui, à la suite de leur disparition, conservent intégrale leur activité naturelle.

Dans la suite, la méthode indiquée par Perrot et Goris, utilisée dans le même but et s'appuyant sur les mêmes données, diffère du précédent en ce qu'il soumet le végétal placé dans l'autoclave à l'action de la vapeur d'eau, pendant dix minutes.

Ces deux méthodes, mises en œuvre pour l'obtention d'extraits physiologiquement actifs ou de plantes stabilisées donnent à l'heure actuelle des rendements excellents et les produits qui en résultent conservent l'activité pharmaco-dynamique des végétaux frais dont ils dérivent, grâce à l'élimination des ferments diastasiques, agents modificateurs du complexe naturel.

Mais à côté de ces agents pharmaco-dynamiques, il faut rapprocher les qualités spéciales à la plante verte, se résumant dans le pouvoir antiscorbutique ; ce dernier

s'oppose au développement du scorbut, maladie à pathogénie restée obscure jusqu'alors et maintenant mieux connue ; son étiologie consiste surtout dans l'absence prolongée de l'aliment varié et frais — telle qu'on la rencontre soit au cours des longues traversées jadis effectuées par les explorateurs — ou pendant les périodes de guerres prolongées où l'alimentation était réduite à l'emploi des vivres secs et conservés — des farineux — et des salaisons, dont l'ensemble prolongé était de nature à provoquer le scorbut.

Cette preuve est encore manifeste chez les nourrissons alimentés exclusivement avec du lait stérilisé et conservé (laits industriels stérilisés), provoquant la maladie de Barlow ou scorbut infantile.

Ces affections relèvent toutes des mêmes causes : carence de substances vivantes nécessaires à la croissance et la nutrition, dénommées vitamines, par Funk et facteurs A et B par d'autres auteurs.

Holst et Fröhlich, au cours d'expériences faites à Christiania, arrivèrent à provoquer un véritable scorbut expérimental chez le cobaye, en nourrissant ces animaux exclusivement avec les graines de différentes céréales. En moins d'un mois, les cobayes moururent avec un amaigrissement considérable, et dans un état cachectique très prononcé.

Par contre, un grand nombre de graines acquièrent des propriétés antiscorbutiques par la germination. Furst l'a établi pour l'avoine. Récemment, les expériences de MM. les professeurs Weill, Mouriquand et Mlle Peronnet établirent ce fait que des cobayes nourris avec de l'orge et de l'avoine germées trois jours

(radicelles et tigelles sans chlorophylle) ne contractaient le scorbut qu'entre le 60^e et le 114^e jour.

Les mêmes expériences répétées à partir du moment où les pousses sont devenues chlorophylliennes donnèrent un résultat négatif au point de vue de l'apparition du scorbut : l'antithèse est donc complète entre l'herbe antiscorbutique et la graine scorbutigène.

Weill, Mouriquand et Michel ont pu conserver des cobayes à ce régime pendant plus de 700 jours, sans qu'à l'autopsie, on ait pu observer la moindre lésion scorbutique.

Ayant pratiqué un grand nombre d'essais avec l'avoine et l'orge, celle-ci, moulue grossièrement et additionnée à de l'eau distillée, ces auteurs ont obtenu un scorbut mortel au bout de vingt-six jours.

Aussi, ont-ils proposé l'adoption de ce régime comme régime type susceptible d'apprécier le pouvoir antiscorbutique des aliments et des régimes et pour se rendre compte de la valeur thérapeutique des divers médicaments devant être utilisés pour prévenir ou guérir cette affection chez l'homme.

Devant l'exposition des faits que nous venons de signaler et de rapprocher, nous nous sommes demandé si l'utilisation des procédés de conservation des plantes fraîches permettait également d'assurer le maintien des propriétés des substances antiscorbutiques.

C'est le problème que nous nous posons au cours de ces recherches dont l'utilité est d'essayer de trouver le moyen de conserver les propriétés antiscorbutiques des plantes fraîches qui, jusqu'ici, ne semblent pas être conservées.

Le but de notre travail réside encore dans le soin d'apporter une contribution à la conservation des produits antiscorbutiques naturels.

Nous nous sommes donc proposé d'expérimenter sur différents lots de cobayes, en mettant en pratique le régime type recommandé par MM. les professeurs Weill et Mouriquand, consistant dans la ration journalière de 30 gr. d'orge additionnée d'eau distillée et recevant respectivement des quantités d'herbe soumise aux divers traitements que nous décrirons dans les chapitres suivants : les différents procédés de conservation des plantes fraîches : 1^o Procédé Bourquelot ; 2^o Procédé Perrot-Goris ; 3^o Procédé de Rossi.

Après avoir fait l'exposé dans le premier chapitre du choix d'une méthode de conservation des propriétés pharmacodynamiques des végétaux frais suivant les procédés Bourquelot, — et Perrot-Oris — et signalé l'atmolyse découverte par R. Dubois, nous indiquerons, en détail, la technique pour la mise en évidence des propriétés antiscorbutiques, suivant les travaux et expériences de MM. Weill et Mouriquand, puis nous donnerons la description de nos expériences personnelles, des conditions dans lesquelles elles ont été effectuées ; enfin, nous exposerons les résultats et les conclusions auxquels nous avons abouti.

Avant d'entreprendre la description de nos expériences, nous tenons à adresser nos vifs remerciements à M. le docteur Michel, préparateur du Laboratoire de Pathologie générale, pour sa collaboration précieuse et pour son empressement à pratiquer les autopsies que nous lui avons confiées.

CHAPITRE I

Les procédés de stérilisation des plantes médicinales

Les transformations qui s'opèrent dans la plante sèche, après la cueillette, ne sont pas seulement mises en évidence par l'aspect extérieur du végétal, mais elles s'opèrent encore au détriment de la constitution intime, de la structure moléculaire qui subissent des modifications progressives. En effet, une évolution se produit comportant plusieurs phases. Voici ce que M. Goris écrit dans son « Etude sur la récolte et culture des plantes médicinales » : au sujet des phénomènes qui se produisent pendant la dessiccation des plantes :

« Un végétal que l'on vient de cueillir continue à vivre
« un certain temps. Il utilise pour cela des réserves qu'il
« transforme et détruit au moins en partie. Parmi ces
« substances se trouvent les hydrates de carbone : ami-

« don, sucres, etc., etc. On y range quelquefois — à tort
« selon nous — les glucosides, saponines, alcaloïdes.

« Ces principes subiront pendant le premier temps
« de la cueillette pendant la phase de végétation inté-
« rieure une diminution dont se ressentira l'activité
« totale du médicament futur. Puis vient la phase de
« déshydratation, l'évaporation enlève à la plante cueil-
« lie la majorité de son eau de végétation, des échanges
« se font entre le contenu des cellules qui ne se font
« pas à l'état normal et mettent ainsi en contact les
« ferments et les substances chimiques primitivement
« séparés. Hydrolases, oxydases, coagulases collaborent
« à la transformation des substances chimiques immé-
« diates. Lorsque la dessiccation est terminée, les rela-
« tions normales entre ces substances, comme leur
« nature chimique même, sont complètement modifiées.»

Signalons, tout d'abord, les tentatives des anciens pharmacologues qui, malgré leur ignorance sur les causes de différences d'activité entre végétaux verts et secs, avaient introduit une nouvelle forme pharmaceutique : les alcoolatures, qui n'a pas répondu au résultat espéré : la teneur variable en eau des plantes, modifiant le titre et par suite diminuant l'activité de la préparation; d'autre part, les réactions intimes continuant à se produire normalement.

Aujourd'hui, grâce à la connaissance de principes nouveaux désignés sous le nom de ferments solubles, existant dans la plante fraîche, nous pouvons nous rendre compte de l'action transformatrice que ces corps viennent apporter au sein du végétal.

En premier lieu, se manifeste l'intervention des fer-

ments hydrolysants, mise en évidence par M. Bourquelot sur le dédoublement des glucosides par hydratation. Ce savant a pensé à utiliser les ferments dans les travaux de chimie végétale, et, en particulier, l'émulsine, principe fermentaire très répandu dans le monde végétal à la recherche des glucosides qu'elle possède la propriété d'hydrolyser. Cette action fermentaire a pour effet de scinder le glucoside, contenu dans le végétal, en ses constituants. C'est ainsi que, dans ces conditions, l'amygdaline, renfermé dans le tourteau d'amandes amères, se dédouble au contact de l'eau et sous l'influence de l'émulsine en glucose, acide cyanhydrique et aldéhyde benzoïque; la prulaurasine, glucoside du laurier-cerise, subissant l'action de l'émulsine, se fragmente en donnant les mêmes corps; de même, la sambunigrine, isolée du sureau noir; c'est encore la bétulase donnant dans l'écorce de « *betula lenta* » ou de « *Gaultheria procumbens* », l'essence de Wintergreen, ou la myrosine dédoublant la sinigrine ou autres glucosides des crucifères en acide cyanhydrique ou à des essences sulfurées. En somme, les termes de cette décomposition remarquable aboutissent à la formation de glucose et de matières diverses, le plus souvent de constitution phénolique, telle que l'arbutine, se séparant en glucose et hydroquinone.

Après l'attaque de la molécule par les ferments hydrolysants amenant le dédoublement du composé, se succèdent les ferments oxydants qui viennent parachever l'œuvre de transformation.

Ce rôle, entrevu dès 1883, par un savant japonais, Yoshida, a été particulièrement étudié par G. Bertrand,

lors de ses recherches sur le katex de l'arbre à laque, qui aboutirent à l'isolement de la laccase, démontrant ainsi l'existence de ferments oxydants, c'est-à-dire, pour employer une expression de Duclaux, « de substances qui permettent à l'oxygène atmosphérique de se porter rapidement à la température ordinaire et dans des conditions qui restent physiologiques sur des corps que, sans les oxydases, il n'attaquerait que plus lentement ».

Quelle est donc la nature de ces ferments ? Ces oxydases nous apparaissent donc comme constituées par une matière protéique associée à un métal : ce dernier étant l'élément actif, la matière protéique n'étant qu'un « porte-métal » destiné à maintenir celui-ci sous la forme la plus propice à la révélation de son rôle oxydant; d'où le nom de co-ferment donné à l'élément minéral et complémentaire activant à la substance organique.

Les ferments oxydants sont très répandus dans la nature. A côté de la laccase, prennent place d'autres oxydases végétales.

Bourquelot a proposé une classification de substances oxydantes comportant quatre classes : 1° ozone; 2° ozonides; 3° ferments oxydants directs; 4° ferments oxydants indirects.

Le troisième groupe comprend les ferments oxydants véritables : ce sont des corps qui possèdent une action oxydante, grâce à l'oxygène de l'air auquel ils communiquent une certaine activité chimique. Ils agissent par leur présence au contact de l'air libre pour fixer sur le corps oxydable une quantité illimitée d'oxygène; d'où absorption considérable d'oxygène par ces ferments.

Dans le quatrième groupe, se trouvent les substances qui, mises en présence de l'eau oxygénée, la décomposent et produisent par conséquent de l'oxygène naissant possédant toutes les propriétés de celui qui a été modifié, excité par le ferment oxydant.

On peut donc différencier les oxydases agissant directement sur la teinture de gaïac sans addition d'eau oxygénée, et en d'autres ferments n'agissant qu'en présence d'eau oxygénée et les classer en deux catégories : 1° ferments oxydants directs : aéroxydases; 2° ferments oxydants indirects, anaéroxydases.

Un réactif, moins altérable, conservant mieux ses propriétés que la teinture de gaïac : le gaïacol donnant une teinte rouge, a été proposé par Bourquelot.

Suivant Bourquelot, les oxydases appartiennent au grand groupe des diastases ou enzymes, et possèdent comme caractères communs :

1° D'être douées de pouvoirs catalytiques, c'est-à-dire susceptibles de réaliser, sous une petite masse, des transformations infiniment grandes; ces agents, vecteurs d'oxygène, réclament l'intervention de l'air pour réaliser la transformation des principes si complexes contenus dans la plante fraîche;

2° De posséder une activité croissante jusqu'à la température optima 40°, s'atténuant à 60-70° pour disparaître complètement à 100°;

3° D'être précipitées par l'alcool à 90°.

4° D'être solubles dans l'eau, après traitement à l'alcool.

Parmi les ferments oxydants, abondamment répan-

du dans le monde végétal, il nous faut signaler un autre entrevu et soupçonné par Bourquelot qui avait constaté que le noircissement du « *B. nigricans* » diffère du « *B. cyaneus* » par ce fait que la solution de substance noircissante ne noircit pas par l'addition de laccase de l'arbre à laque.

En 1896, Bourquelot et Bertrand signalent l'apparition dans certains champignons d'un ferment oxydant d'une grande activité, différent de la laccase et dont l'étude complétée par Bertrand, lui permit d'attribuer des caractères spéciaux en raison de son action particulière sur la tyrosine : c'est la Tyrosinase. « On sait, dit-il, avec quelle rapidité le suc de betterave, les tubercules de dahlia et de pommes de terre se colorent en rouge, puis en noir au contact de l'air. Ces colorations sont dues à l'oxydation de la tyrosine sous l'influence d'un ferment soluble. »

Signalons encore l'existence d'œnoxydases, autres diastases oxydantes possédant une influence transformatrice sur les matières colorantes du vin, capables de produire la casse du vin — de maloxydases, chez les pommes et les poires — de schinoxydase. Tous ces ferments répandus dans les tissus végétaux sont souvent accolés à un chromogène qui permet de déceler l'action oxydante du ferment; c'est ainsi que l'on rencontre le laecol accompagnant la laccase dans l'arbre à laque; la tyrosinase juxtaposée avec la tyrosine dans les champignons.

Dans un rapport présenté au « XIII^e Congrès international de Médecine » (Paris, 2 août 1899), après avoir rappelé la classification des différentes matières oxy-

dantes susceptibles d'être rencontrées chez les êtres vivants, Bourquelot fait l'exposé des produits médicamenteux contenant des substances oxydantes. Ayant étudié le rôle de ces dernières substances dans l'oxydation des médicaments, il attire l'attention sur le rôle particulier des anaéroxydases et sur les phénomènes d'autoxydation qui se produisent dans un certain nombre de médicaments conservés à l'officine. Un procédé spécial indiqué par l'auteur pour la caractérisation des autoxydations consiste à ajouter au médicament quelques gouttes de teinture de résine de gaïac, faite au moment de l'essai et un liquide renfermant une anaéroxydase : macération aqueuse de gruau. S'il y a un peroxyde, il y a apparition d'une teinte bleue.

Cette réaction, effectuée sur les teintures d'aconit, d'arnica, de belladone, castoreum, bulbes de colchique, colombo, girofle, jusquiame, quinquina gris, safran, valériane, démontre qu'elles sont le siège d'autoxydations. Ainsi, l'addition à ces médicaments de préparations renfermant des anaéroxydases ne peut que provoquer de nouvelles oxydations.

Comme conclusion, l'auteur ajoute : Toutes les matières oxydantes citées peuvent concourir aux oxydations qui se produisent dans les médicaments d'origine végétale. Celles qui interviennent le plus sont les oxydases directes, et elles interviennent surtout dans les médicaments dont la préparation s'effectue sans le concours de la chaleur qui, comme on le sait, détruit les ferments solubles. Ces médicaments sont les teintures et les alcoolatures. Les anaéroxydases n'interviennent que là où il se produit déjà des oxydations

spontanées pouvant être apportées par les germes ou les poussières de l'air.

Et il termine en disant qu'il y aurait avantage à préparer non pas les teintures (celles-ci étant à base de drogues sèches), mais les alcoolatures, en employant l'alcool bouillant, de façon à détruire les oxydases des plantes fraîches. Comme critérium, il signale ce fait que les produits ainsi obtenus conservent très longtemps leur couleur primitive, ce que ne font pas les alcoolatures actuelles de la pharmacopie française.

Enfin, dans un second rapport présenté au même congrès, intitulé : « Sur quelques données relatives à la préparation des principes actifs des végétaux », M. Bourquelot, faisant ressortir que certain produit, comme le tréhalose, matière sucrée, isolée par lui d'un grand nombre d'espèces de champignons, disparaît rapidement des champignons, conservés frais ou desséchés à basse température, en faisant place à des sucres différents : mannite et dextrose, arrive à conclure que les principes isolés des végétaux desséchés ne sont pas toujours des principes existant chez les végétaux vivants, mais souvent des corps résultant d'hydratation, de réduction ou d'oxydation de ces mêmes principes. Après la mort des tissus, il se produit un mélange de sucres et l'intervention de ces ferments hydratants ou oxydants qui engendrent ces réactions.

D'où la nécessité pour établir la diagnose des principes immédiats contenus dans le végétal vivant de supprimer les ferments : ce moyen est réalisé en jetant les végétaux frais et vivants dans de l'alcool porté et maintenu à l'ébullition.

Les conceptions de Bourquelot et ses élèves ont servi à appliquer ce principe soit à l'étude de la composition de plusieurs végétaux possédant un réel intérêt en thérapeutique (Polygala-Gentiane), soit à la préparation de médicaments galéniques, dérivant des végétaux frais tels que alcoolatures, extraits. Les produits obtenus avec ce procédé sont complètement différents de ceux préparés avec les méthodes habituelles ou officielles. C'est ainsi qu'on obtient avec les noix de kola fraîches un extrait blanc au lieu d'un extrait foncé; des alcoolatures de digitale présentant une couleur verte persistante, d'anémone ayant une teinte violette et non jaune verdâtre. Ces phénomènes observés sont dus à la présence d'une oxydase; à elle doivent être attribués ces changements de couleur et d'autres modifications intimes; l'oxydase, comme l'a montré Bourquelot, prolongeant son action même en milieu alcoolique.

Ainsi, se résume le procédé Bourquelot, destiné à assurer les propriétés des végétaux frais et employé de préférence pour les feuilles: il consiste à plonger pendant 10 minutes, dans l'alcool à 95° bouillant, la plante dont on veut détruire l'oxydase, à l'exclusion des autres composants.

S'inspirant des mêmes principes, Perrot et Goris-Arnould ont proposé une autre technique de stérilisation dont nous reproduisons les détails:

La plante ou l'organe végétal frais découpé, mais non broyé, est disposé par couches de faible épaisseur dans des paniers en fil métallique; on chauffe l'autoclave à 100° et on laisse fluer abondamment la vapeur;

on y introduit ensuite les paniers, et l'appareil étant clos, on purge rapidement l'appareil de l'air qui y est contenu.

On élève aussi vite que possible la température à 105-110° et on la maintient 5 à 10 minutes, suivant la quantité de plante introduite ; la stérilisation terminée, on retire la plante ainsi « stabilisée » que l'on découpe en menus fragments et que l'on fait sécher à l'air libre ou à l'étuve.

Cette méthode, dont Perrot et Goris ont fait de nombreuses applications pour l'obtention de certains produits galéniques, présentant une forme extractive bien différente avec les préparations anciennes et connue dans l'industrie pharmaceutique sous le nom d' « Intraits », a été utilisée dans de nombreux cas. Nous signalerons un procédé de conservation et de stérilisation des noix de kola fraîches, décrit par Goris et Arnould. Ayant fait remarquer la valeur thérapeutique des noix fraîches beaucoup plus supérieure à celle des noix sèches dont les principes immédiats ont été transformés par une oxydase très active, la koloxydase, et l'inconvénient du procédé Bourquelot consistant à mettre en contact des noix de kola fraîches renfermant 50 à 60 % d'eau, abaissant ainsi le titre alcoolique de la solution et dissolvant certains produits, ils ont eu recours à leur procédé pour assurer la conservation des principes actifs. Ils suppriment ainsi par la stérilisation l'oxydase susceptible de provoquer son action défavorable sur le composé complexe renfermant la caféine, action se traduisant également par une modification de couleur, la noix charnue blanche ou rose à l'état frais

faisant place à une amande rougeâtre et extrêmement dure à l'état sec. Le résultat de l'opération, c'est que l'on peut retirer de la noix de kola fraîche stérilisée, et de ses préparations galéniques, de la caféine, de la théobromine et un tannoïde cristallisé, association complexe existant dans les cellules végétales, la kolatine, qui, pendant la dessiccation de la noix, devient sous l'influence de l'oxydase du rouge de kola insoluble. Or, on a remarqué que la kolatine possède une valeur physiologique différente et même antagoniste de celle de la caféine.

D'autres recherches faites sur les feuilles de digitale avec les méthodes de stérilisation à l'autoclave ont permis de détruire l'oxydase qui aurait pu transformer le glucoside digitalique et conserver l'aspect, couleur, souplesse et particulièrement l'odeur. Ces feuilles, pouvant être conservées indéfiniment, sont employées avec avantage pour la préparation des différents produits galéniques usuels, tels que : poudre inaltérable, de belle couleur verte, extrait donnant une solution peu colorée en brun rougeâtre et possédant l'odeur spéciale de la plante verte.

On a pu encore réaliser des préparations très actives de valériane, dépourvues d'odeur due à une action diastatique produite pendant la dessiccation et dont l'action destructrice se poursuit sur l'alkaloïde et le glucoside renfermés dans le végétal frais.

Un autre exemple typique nous est fourni par la racine de gentiane fraîche, active par son glucoside : la gentiopierine, qui a totalement disparu dans la plante sèche.

La liste, comme on le voit, est longue de tous les végétaux sur lesquels ont expérimenté MM. Perrot, Goris, et autres auteurs; notons encore : la belladone, le muguet, le genêt, marrons d'Inde, scille, colèchique. Ainsi tous les résultats obtenus avec ces différents produits viennent corroborer le principe définitivement admis de la conservation de l'activité des plantes fraîches, démontrées par des essais physiologiques, au moyen des procédés de Bourquelot ou de Perrot et Goris.

A côté de ces procédés, il convient de rappeler les phénomènes d'atmolyse décrits par R. Dubois (C. R., 1911).

Le terme d'atmolyse a été donné par l'auteur à « l'action qu'exercent sur la substance organisée les vapeurs des liquides organiques neutres volatils tels que chloroforme, benzine, alcools, éthers, possédant les propriétés physiologiques des anesthésiques généraux : ces vapeurs en question agissent par diffusion, osmose, dialyse spéciale, et leur action peut être diversement modifiée par la température, la pression ».

« L'atmolyse, conclut R. Dubois, constitue un procédé précieux d'analyse physiologique, physico-chimique et aussi d'extraction de principes immédiats utilisés en thérapeutique. » MM. Boulanger et Dausse, ayant passé sous silence dans leur brochure la découverte de Dubois : « Ceux-ci, écrit-il, ne pourront pas se refuser à reconnaître que leurs sucs végétaux sont préparés par atmolyse, puisqu'ils font agir des vapeurs d'éther sur des plantes fraîches, et non par étherolyse, puisque dans ce procédé dû à Legrip, les plantes sont immergées dans l'éther liquide, ce qui donne des résultats différents. »

Au cours de son article, R. Dubois, au sujet de l'assertion concernant l'action destructive de tous les ferments solubles par la chaleur et les vapeurs d'alcool sans modification de la composition chimique de la plante restée identique à celle qui existait au moment de la cueillette, tient à prouver « que le fait d'employer les vapeurs d'alcool bouillant fait rentrer le « *modus operandi* » employé par MM. Boulanger et Dausse dans le cadre de l'atmolyse » et prétend que « par suite des modifications survenues dans le végétal après la mort du tissu vivant, modifications plus accusées par l'emploi d'un liquide anesthésique, tel que l'alcool, il est anti-scientifique de dire que des substances obtenues par le procédé d'analyse immédiate de l'atmolyse représentent inaltéré le complexe primitif soluble dans l'eau qui existait dans la plante vivante ».

Selon R. Dubois « tout produit préparé à l'aide de l'atmolyse doit scientifiquement porter le nom de produit atmolysé ».

Sans avoir l'intention d'intervenir dans ce débat, nous nous contenterons de dire que nous n'avons envisagé que l'action des vapeurs à des températures supérieures à 75°, dans des conditions telles que c'est tout autant, sinon plus, la température que l'action des vapeurs, qui est responsable de la destruction des agents modificateurs des propriétés pharmacodynamiques des végétaux.

CHAPITRE II

Les effets de la dessiccation sur les facteurs du régime type pour l'étude du scorbut expérimental.

Depuis Holst et Fröhlich, on sait que le cobaye, laissé à un régime de graines ordinaires complètes, présente au bout de vingt à vingt-cinq jours des phénomènes morbides rappelant trait pour trait le scorbut humain et surtout la maladie de Barlow. On sait également que l'adjonction à ces graines d'un aliment frais (végétaux, jus de fruits) suffit à permettre une survie indéfinie. Les travaux de MM. les professeurs Weill et Mouriquand ont permis d'étendre et de préciser beaucoup cette notion.

C'est ainsi qu'ils ont montré que l'orge très scorbutigène pour le cobaye le devient beaucoup moins quand la graine est soumise à la germination pendant trois jours (tigelles et radicules sans chlorophylle). Cependant et contrairement à l'opinion de Fürst, ils ont obtenu dans

ces conditions un scorbut grave, mais au cent quatorzième jour seulement. Par contre, si la germination est suffisamment poussée jusqu'à ce que la tige verte ait atteint 10 à 12 cm. de longueur, la survie est indéfinie et ils ont pu conserver les animaux à ce régime neuf cent soixante-dix jours et plus.

Régime : orge et herbe verte.

Tout se passe donc comme si l'orge scorbutigène par lui-même produit au cours de la germination une substance antiscorbutique très active qui existe seulement par les parties succulentes de la tige ; la chlorophylle ne joue ici aucun rôle, car l'orge germée à l'obscurité complète conserve les mêmes propriétés.

Ce facteur antiscorbutique possède une labilité considérable ; non seulement la stérilisation à l'autoclave suffit à le détruire, mais la simple dessiccation à l'étuve, à une température douce (37°) pendant quarante-huit heures suffit à permettre l'apparition du scorbut un peu retardé cependant.

Des communications de M. le professeur Mouriquand, et docteur Michel, on peut conclure que la substance antiscorbutique est fonction étroite de l'eau de végétation, au mieux de l'« eau vivante ».

En effet, il ne s'agit pas là d'une simple deshydratation banale, car cette herbe ainsi desséchée, puis macérée pendant dix-huit heures, reste aussi inactive. Un fait important et qui vient à l'appui de ces idées est le suivant :

La disparition du facteur antiscorbutique est directement proportionnel à l'intensité de la dessiccation, puisque les mêmes auteurs ont montré que lorsque 10

grammes d'herbe fraîche étaient réduits à 4 gr., les troubles apparaissaient vers le cinquantième jour, alors que lorsque ces 40 gr., n'étaient réduits qu'à 2 gr. 2 gr. 50 par la température du laboratoire, comprise entre 12° et 20°, le scorbut n'apparaissait que vers le centième jour.

En résumé, on peut admettre pour l'instant que d'après les recherches expérimentales de Weill, Mouriquand et Michel, l'existence du facteur antiscorbutique est liée à la présence d'un état physico-chimique spécial de l'aliment (état vivant).

Dans nos expériences personnelles, nous nous sommes toujours servi d'un critérium analogue, en donnant à nos sujets témoins une ration journalière de 30 gr. orge complète et 10 gr. herbe fraîche de 10 à 15 cm. de hauteur.

CHAPITRE III

Conditions dans lesquelles ont été effectuées nos expériences sur la possibilité de conser- vation des facteurs antiscorbutiques par les procédés de stérilisation des plantes médi- cinales.

Pour leur réalisation dans les meilleures conditions possibles, nous avons logé dans des cages de bois les lots de cobayes ; chaque cobaye étant placé dans un compartiment spécial. Nous avons ainsi groupé quatre sujets pour chacun des quatre différents lots et avons eu soin de disposer ces cages dans un local vaste bien éclairé et très sain, chauffé à une température maintenue constante par des radiateurs.

La ration journalière était donnée chaque matin, à 10 heures ; auparavant, la pesée des cobayes avait été faite et enregistrée ; de même, les quantités de rations de la veille qui n'avaient pas été ingérées étaient notées.

COMPOSITION DES RATIONS

Le premier lot (témoin). — Nos 1, 2, 3, 4. — Chaque cobaye recevait quotidiennement 30 gr. d'orge moulue grossièrement, additionnée de 40 cmc. d'eau, le tout mélangé — et séparément 10 gr. d'herbe fraîche.

Le deuxième lot, Nos 5, 6, 7, 8. — Même quantité d'orge et d'eau avec 10 gr. d'herbe fraîche, séchée à l'étuve à 37° pendant quarante-huit heures. Cette herbe découpée était incorporée au pâton.

Le troisième lot. — Nos 9, 10, 11, 12. — Mêmes proportions d'orge et eau, avec 10 gr. d'herbe fraîche préparée suivant le procédé Perrot-Goris, passée à l'autoclave à 110° pendant dix minutes. Incorporation faite de la même façon.

Enfin le quatrième lot. — Nos 13, 14, 15, 16. — Même ration d'orge et d'eau, et 10 gr. d'herbe fraîche, traitée suivant le procédé Bourquelot, c'est-à-dire plongée dix minutes dans l'alcool à 95° bouillant; de plus 50 cmc. de la solution d'extrait préparée spécialement et décrite plus loin étaient ajoutés à la ration ; le tout mélangé.

Pendant l'allaitement, les témoins 1 et 2 ont reçu une ration journalière s'élevant à 60 gr. d'orge et 20 gr. d'herbe fraîche.

Cultures. — Nous avons réalisé nos provisions d'herbe fraîche en cultivant l'orge sur de grands tamis rectan-

gulaires de 1 m. sur 0,60, construits au laboratoire, formés de toiles métalliques à mailles fines dont la surface est recouverte d'une couche de taralatane. Une série de ces tamis, ensemencés et placés dans le même local, offrant des conditions favorables de température, lumière, aération, pour la végétation, nous a permis d'avoir constamment à notre disposition de l'herbe fraîche utilisée pour l'alimentation des témoins ou la préparation spéciale des divers régimes. Durant la période d'expériences de janvier à avril, la durée de la germination n'a duré que vingt jours pour donner une récolte d'herbe ayant atteint une hauteur de 15 centimètres.

Le rendement d'un tamis ensemencé avec 1 kilo de graines d'orge fournissait en moyenne 500 gr. d'herbe fraîche.

Préparation de l'herbe étuvée. — L'herbe disposée en couches peu épaisses sur des supports confectionnés avec de la toile métallique a été soumise pendant quarante-huit heures, à la température de 37°, dans l'étuve électrique de M. le professeur Morel. Au sortir de l'étuve, la couleur de l'herbe n'est presque pas modifiée. Rendement : 12 %.

Préparation de l'herbe suivant le procédé Perrot-Goris. — L'herbe est placée en couches de faible épaisseur, dans un panier comprenant plusieurs plateaux en toile métallique disposés en étages ; on chauffe l'autoclave à 100° et on laisse fluer abondamment la vapeur ; on y introduit ensuite le panier et, l'appareil étant clos, on purge rapidement l'appareil de l'air contenu.

On élève aussi vite que possible la température à 110° et on la maintient dix minutes ; la stérilisation terminée, on retire la plante que l'on fait sécher à l'air libre. Après dessiccation, l'herbe présente une coloration brune, noirâtre très accentuée. Rendement : 13 %.

Préparation de l'herbe : procédé Bourquelot. — L'herbe est plongée pendant dix minutes dans l'alcool à 95° bouillant ; on détruit les oxydases sans altérer les autres principes. Pour réaliser cette opération, nous nous sommes servis d'un alambic dans le récipient duquel nous avons placé l'herbe avec l'alcool. Nous avons porté l'alcool à la température de l'ébullition en chauffant au bain-marie. Grâce à un réfrigérant à reflux incliné, adapté à la partie supérieure de l'alambic, les vapeurs d'alcool se condensant dans l'appareil, l'ébullition a été maintenue régulièrement pendant l'opération. Au bout de dix minutes l'herbe est retirée et séparée de l'alcool qui a pris une teinte vert foncée. On place l'herbe dans un nouet de gaze et on la soumet à l'action de l'essoreuse électrique du laboratoire. L'herbe séchée est à peine colorée, présente une couleur vert clair par suite de l'entraînement de la chlorophylle par l'alcool. Rendement : 11 %. Afin de ne pas exclure de la ration les principes qui auraient été soustraits par l'alcool, nous avons eu soin de préparer avec le liquide alcoolique un extrait que nous avons ajouté sous forme de solution au mélange d'orge et d'herbe.

L'évaporation et la concentration du liquide alcoolique sous forme d'extrait ont été réalisés en le soumettant à l'action du vide, à une température de 35°. Le

résidu, complètement privé d'alcool, a été mis en solution titrée, chaque cobaye recevant quotidiennement 50 cmc. de cette solution.

Afin d'éviter tout vieillissement, modifications et altérations pouvant se produire au bout d'un laps de temps assez restreint, ces différentes préparations d'herbe ont été faites pour le régime journalier de quatre jours.

Interprétation des résultats des divers régimes. —

Nous ne nous sommes pas bornés, au cours de nos expériences, à constater les variations de poids subies par chaque cobaye. Nous avons fait l'examen attentif journalier des animaux en recherchant les troubles occasionnés par le scorbut et qui se résument par le tableau clinique suivant :

Amaigrissement progressif. Diminution de l'appétit vers le quinzième jour. A partir des seizième et dix-huitième jours : aspect caractéristique ; état en boule, poil hérissé. Gonflement des membres postérieurs et antérieurs très sensibles au toucher. Train de derrière soudé. Mouvements lents ; marche difficile.

Enfin, les autopsies pratiquées par M. le docteur Michel nous ont permis de constater les altérations typiques : hémorragies sous-cutanées, musculaires ou périostiques. Altérations du squelette se traduisant par des altérations médullaires et congestion des épiphyses ; raréfaction osseuse produisant la fracture spontanée au niveau des cartilages de conjugaison.

Côtes et maxillaires également modifiés.

Fragilité et friabilité osseuses.

Enfin, nous avons pratiqué à la suite des autopsies

faites avec nous par le docteur Michel, la dessiccation des os des membres antérieur et postérieur, la détermination des rapports des poids de ces os secs par rapport au poids total des animaux, le dosage des cendres et celui de la chaux.

EXPÉRIENCES PERSONNELLES

Notre première série d'expériences a été entreprise à la date du 21 février 1921 ; le poids de chaque cobaye a été déterminé à 10 heures du matin-; en même temps on a noté les différentes observations ayant trait à l'état de chaque animal.

Animaux recevant de l'herbe fraîche

N° 1 (*Matricule 14*). — Cobaye adulte, femelle pleine, poids, 790 grammes.

Ration quotidienne : 30 gr. orge moulue, 10 gr. herbe fraîche.

3^e jour. — Donne naissance à 3 cobayes. Poids, 490 gr. Pendant l'allaitement, la ration quotidienne est portée à 60 gr. orge et 20 gr. herbe fraîche.

16^e jour. — Poids, 515 gr. Etat général bon. Appétit excellent. Aucun signe anormal à signaler.

24^e jour. — Poids, 495 gr. Va bien. Aspect entièrement normal. Augmentation de poids. (Etat satisfaisant des jeunes cobayes.)

31^e jour. — Poids, 490 gr. Sevrage. On rétablit la ration du début : 30 gr. orge et 10 gr. herbe fraîche. Rien à signaler.

41^e jour. — Poids, 510 gr. Aspect florissant. Appétit satisfaisant.

45^e jour. — Poids, 500 gr. Va bien. Il serait impossible de le différencier d'un cobaye dans les conditions habituelles. Interruption de l'expérience.

N° 2 (*Matricule 28*). — Cobaye adulte, femelle en gestation, poids, 715 grammes.

Ration quotidienne : 30 gr. orge moulue grossièrement, 10 gr. herbe fraîche.

Le 6^e jour. — Donne naissance à 2 cobayes. Poids, 575 gr. Pendant l'allaitement, nous avons porté la ration journalière à 60 gr. orge moulue et 20 gr. herbe fraîche.

Le 13^e jour. — Poids, 560 gr. Appétit régulier. Aspect normal. Rien à signaler.

Le 24^e jour. — Poids, 505 gr. Léger amaigrissement. Appétit vorace des jeunes cobayes, dont le poids s'élève régulièrement.

Le 30^e jour. — Sevrage. Poids, 505 gr. Etat satisfaisant. Reprise de la ration type : 30 gr. orge, 10 gr. herbe fraîche.

Le 37^e jour. — Poids, 505 gr. Nous constatons la présence d'un gonflement généralisé à la patte postérieure, donnant de la raideur à la marche. Rien d'anormal à signaler ; état général favorable.

Le 45^e jour. — Poids, 499 gr. Persistance du gonflement ; marche toujours pénible. Léger amaigrissement. Pas d'autres troubles constatés.

On le sacrifie ; l'autopsie ne donne aucune indication concernant les divers viscères. Pas d'hémorragie intramusculaire.

Les diaphyses présentent bien une cavité médullaire, augmentée de volume, mais l'os est très résistant et il est impossible de le casser à la main. Les épiphyses sont normales.

Donc pas de lésions macroscopiquement évidentes.

La paralysie terminale peut être due à des causes très variées et très indéterminées.

N° 3 (Matricule 23). — Femelle pleine, 630 grammes.

Ration quotidienne : 30 gr. orge moulue, 10 gr. herbe fraîche.

Le 8^e jour. — Poids, 579 gr. Etat normal. Mange bien.

Le 18^e jour. — Poids, 540 gr. Léger amaigrissement.

Le 20^e jour. — Poids, 505 gr. Avortement.

Le 25^e jour. — Poids 355 gr. Perte d'appétit.

Le 26^e jour. — Mort. Autopsie : rien aux différents organes. Utérus gros et congestionné. Squelette : fragilité extrêmement atténuée et qu'on ne peut apprécier que par comparaison. Pas d'état vacuolaire. Moelle osseuse normale. Rien à la colonne vertébrale, ni aux parois craniennes.

Pas de Scorbut macroscopiquement appréciable.

N° 4 (*Matricule 34*). — Adulte mâle. Poids, 325 grammes.

Ration : 30 gr. orge moulue, 10 gr. herbe fraîche.

Le 10^e jour. — Poids, 350 gr. Appétit vorace ; animal vigoureux.

Le 21^e jour. — Poids, 360 gr. Aspect très florissant.

Le 31^e jour. — Poids, 365 gr. Etat satisfaisant ; mange avec appétit.

Le 41^e jour. — Poids, 380 gr. Augmentation de poids ; amélioration progressive.

Le 45^e jour. — Poids, 385 gr. Va bien. Interruption de l'expérience.

De même que le N° 1, ce cobaye a très bien supporté le régime institué au point qu'on ne pourrait le différencier d'un autre placé dans des conditions habituelles.

Ainsi pendant la durée complète des expériences, les cobayes témoins se sont très bien adaptés au régime alimentaire type ; les femelles pleines, sauf une morte après avortement, ont pu, tout en allaitant leurs petits, maintenir constant leur poids, sans présenter aucune réaction pathologique, comme le témoignent les indications journalières ainsi que les autopsies faites sur les N°s 2 et 3.

Il n'en a pas été de même pour les différents lots de cobayes alimentés à l'herbe soumise à des températures variables.

Animaux recevant de l'herbe séchée à 37°

2^e Lot. — N° 5, 6, 7, 8.

N° 5. — Femelle pleine. Poids, 540 grammes.

Ration : 30 gr. orge moulue, 10 gr. herbe séchée à l'étuve à 37° pendant 48 heures.

Le 10^e jour. — Poids, 530 gr. Supporte bien le régime.

Le 20^e jour. — Poids, 565 gr. Appétit excellent.

Le 24^e jour. — Avortement.

Le 25^e jour. — Poids, 485 gr.

Du 25^e au 32^e jour. — Poids décroissant rapidement à 333 gr. Ne mange plus. Dépression. Immobilité.

Mort le 32^e jour.

Autopsie immédiate : Rien aux divers organes. Os très résistants, sans friabilité ni congestion.

Absolument pas de traces de Scorbut.

N° 6. — Femelle adulte. Poids, 325 grammes.

Ration : 30 gr. orge moulue, 10 gr. herbe étuvée à 37° pendant quarante-huit heures. Appétit modéré du 3° au 6° jour. Diminution de poids. A partir du 7° jour, l'appétit s'améliore ; poids augmenté.

Le 17° jour. — Poids, 349 gr.

Le 26 jour. — Poids, 315 gr. L'animal continue à manger presque toute sa ration. Marche difficile. Aspect typique, en boule ; poil hérissé. Immobilité.

Le 30° jour. — Poids, 300 gr. ; Gonflement des membres postérieurs. Sensibles à la pression des doigts. Train de derrière soudé ; marche pénible.

Le 33° jour. — Chute du poids : 259 gr. Aspect lamentable ; ne mange plus. Se soutient difficilement sur les pattes.

Le 35° jour. — Mort. Poids, 215 gr.

Autopsie. — Quelques hémorragies pulmonaires discrètes.

Membres antérieurs : friabilité intense avec aspect vacuolaire net.

Membres postérieurs : très nombreuses hémorragies intramusculaires diffuses ; fragilité intense. Les os se coupent et s'écrasent à la moindre pression. Epiphyses réduites à une coque osseuse extrêmement mince ; friabilité considérable de la colonne vertébrale. Parois craniennes normales.

Scorbut très intense.

N° 7 (*Matricule 39*). — Mâle. Poids, 335 grammes.

Ration : 30 gr. orge moulue, 10 gr. herbe étuvée à 37° pendant 48 heures.

Le 10° jour. — Poids, 375 gr. Mange bien. Etat satisfaisant.

Le 16° jour. — Poids 385 gr. Appétit régulier. Rien d'anormal à signaler.

Le 24° jour. — Poids, 349 gr. Délaisse sa nourriture. Changement d'aspect : immobilité ; hérississement du poil ; membres postérieurs congestionnés, douloureux au palper.

Le 28^e jour. — Poids, 290 gr. Aggravation des symptômes scorbutiques.

Le 32^e jour. — Poids, 215 gr. Etat cachectique.

Le 33^e jour. — Mort.

Autopsie. — Rien aux viscères. Gril costal un peu vascularisé. Hémorragies musculaires diffuses et très marquées vers les deux genoux ; friabilité extrême de tout le squelette. Etat vacuolaire très intense ; fragilité considérable : les diaphyses se rompent à la moindre pression. Colonne vertébrale très ramollie. Parois craniennes assez résistantes.

Scorbut très intense.

N° 8 (Matricule 44). — Mâle adulte. Poids, 460 grammes.

Ration : 30 gr. orge moulue, 10 gr. herbe étuvée à 37° pendant 48 heures.

Le 12^e jour. — Poids, 480 gr. Absorbe régulièrement sa nourriture. Etat excellent.

Le 18^e jour. — Poids, 490 gr. Rien d'anormal.

Le 25^e jour. — Poids, 459 gr. Inappétence. Aspect spécial : immobilité, hérissément du poil ; gonflement des membres antérieurs et postérieurs, douloureux à la pression des doigts ; se déplace péniblement.

Le 30^e jour. — Chute de poids notable : 330 gr. Prostration complète ; mange à peine. Etat lamentable.

Le 34^e jour. — Mort. Poids, 260 gr.

Autopsie. — Hémorragies pulmonaires assez accentuées. Membres antérieurs : à peu près normaux, sauf une légère fragilité.

Membres postérieurs : hémorragies très discrètes vers les deux genoux, fragilité assez intense avec aspect vacuolaire net.

Colonne vertébrale et crâne normaux.

Scorbut net d'intensité modérée.

Les résultats obtenus avec le lot N° 2 sont tous nettement positifs ; nous avons pu constater l'évolution régulière du scorbut, suivant le tableau clinique décrit par Hölst et Fröhlich ; de même, les lésions relevées à l'autopsie sont caractéristiques. La durée de cette expé-

rience a été respectivement de trente-deux à trente-cinq jours.

Animaux recevant de l'herbe stérilisée à la vapeur d'eau

3^e Lot. — N° 9 (*Matricule 49*). — Mâle. Poids, 415 grammes.

Ration : 30 gr. orge moulue, 10 gr. herbe autoclavée dix minutes à 110°, puis séchée rapidement à l'air libre.

Le 10^e jour. — Poids, 430 gr. Accoutumance assez facile au régime.

Le 14^e jour. — Poids, 435 gr. Rien à signaler.

Le 18^e jour. — Poids, 405 gr. Inappétence. Aspect triste. Im-mobilité.

Le 23^e jour. — Poids, 340 gr. Amaigrissement prononcé. L'animal reste couché ; marche en rampant ; gonflement articulaire des pattes très sensible au palper.

Le 26^e jour. — Poids, 265 gr. Etat lamentable. Mêmes symptômes manifestement aggravés.

Le 28^e jour. — Mort. Poids, 255 gr.

Autopsie. — Grosses hémorragies intramusculaires des membres postérieurs ; friabilité considérable, avec aspect vacuolaire intense des quatre membres.

Poumons congestionnés rouge vif. Colonne vertébrale et parois crâniennes très friables.

Scorbut intense.

N° 10 (*Matricule 61*). — Mâle. Poids, 365 grammes.

Ration : 30 gr. orge moulue, 10 gr. herbe autoclavée à 110° pendant dix minutes et séchée à l'air libre.

Le 11^e jour. — Poids, 385 gr. S'adapte bien au régime.

Le 16^e jour. — Poids, 350 gr. Appétit légèrement diminué.

Le 22^e jour. — Poids, 320 gr. S'alimente peu. Somnolence.

Raideur du train de derrière. Membres antérieurs et postérieurs gonflés et hyperesthésiés au niveau des articulations. Se tient difficilement sur les pattes ; marche rampante.

Le 26^e jour. — Poids, 245 gr. Amaigrissement très rapide. Inappétence presque complète. Ne réagit plus. Aggravation des symptômes apparus le 22^e jour.

Le 28^e jour. — Poids, 225 gr. Mort.

Autopsie. — Hémorragie intramusculaire discrète aux genoux. Friabilité osseuse considérable.

Aspect vacuaire des épiphyses extrêmement marqué aux membres antérieurs, à peine ébauché aux membres postérieurs.

Rien aux poumons. Colonne vertébrale et parois craniennes très friables.

Scorbut.

N° 11 (*Matricule 66*) — Mâle. Poids, 340 grammes.

Ration : 30 gr. orge moulue, 10 gr. herbe autoclavée à 110° durant dix minutes, et séchée à l'air libre.

Le 12^e jour. — Poids, 465 gr. Prend régulièrement sa ration.

Le 22^e jour. — Poids, 425 gr. Appétit moindre. Poil hérissé. Se ratatine.

Le 24^e jour. — Poids, 380 gr. Délaisse sa nourriture. Aspect peu vigoureux. Très amaigri. Etat triste. Croûtes nasales. Poil humide au niveau de la région abdominale. Gonflement des pattes postérieures. Raideur du train de derrière. Se maintient difficilement sur ses pattes.

Le 28^e jour. — Poids, 295 gr. Etat très cachectique.

Le 30^e jour. — Mort.

Autopsie. — Hémorragie intramusculaire discrète, au niveau du genou gauche. Aspect vacuaire des épiphyses très marqué.

Friabilité considérable des os longs qui se laissent couper très facilement. Rien aux poumons. Péritoine légèrement congestionné.

Scorbut moyen.

N° 12 (*Matricule 77*). — Mâle. Poids, 440 grammes.

Ration : 30 gr. orge moulue, 10 gr. herbe autoclavée à 110° pendant dix minutes, puis exposée à l'air libre.

Le 12^e jour. — Poids, 450 gr. Mange assez bien. Bon état général.

Le 18^e jour. — Poids 425 gr. Appétit en décroissance. Aspect moins favorable.

Le 20^e jour. — Poids 375 gr. Animal rétracté en boule. Dos voûté. Légère paralysie des pattes. Sensibilité au niveau articulaire par le palper. Poil ventral humide.

Le 23^e jour. — Poids, 305 gr. Aggravation considérable de

tous les symptômes scorbutiques. Appétit nul. L'animal semble inanimé.

Le 26 jour. — Poids, 245 gr. Mort.

Autopsie. — Rien aux poumons. Intestin très ratatiné. Cœcum complètement vide. Capsules surrénales assez grosses.

Squelette. — Membres antérieurs ; pas d'hémorragie, pas d'aspect vacuolaire, friabilité nette.

Membres postérieurs : les deux membres sont le siège de volumineuses hémorragies surtout à l'extrémité supérieure du tibia.

Aspect vacuolaire intense. Os se coupant à la moindre pression. Moelle congestionnée, rouge noirâtre.

Scorbut intense, prédominant de beaucoup aux membres postérieurs.

Ici encore, sous l'influence d'une alimentation, en partie stérilisée, nous avons reproduit un scorbut expérimental se manifestant sur tous nos sujets d'une façon plus précoce que dans l'expérience précédente ; l'apparition des symptômes variant entre le dix-huitième et le vingt-deuxième jour, suivie d'une mort plus rapprochée entre le vingt-sixième et trentième jour.

Animaux ayant reçu de l'herbe stérilisée par la vapeur d'alcool

4^e Lot. — N° 13 (*Matricule 84*). — Mâle. Poids, 680 grammes.

Ration : 30 gr. orge moulue, 10 gr. herbe soumise à l'ébullition dans l'alcool à 95° durant dix minutes, puis séchée à l'air libre, addition de 50 cme. d'extrait liquide suivant le mode de préparation décrit au chapitre.

Le 10^e jour. — Poids, 695 gr. Animal vigoureux. Accoutumance très rapide au régime. Ration complètement ingérée.

Le 19^e jour. — Poids, 725 gr. Même état favorable.

Le 25^e jour. — Poids, 700 gr. Appétit plus restreint. Amaigrissement.

Le 27^e jour. — Poids 665 gr. Mauvaise apparence. Peu vigoureux. Inappétence. Poil hérissé. Train de derrière soudé. Paralyse des pattes postérieures. Marche difficile.

Le 33^e jour. — Diminution rapide du poids, 400 gr. Cachexie profonde. Appétit à peu près nul. Mort.

Autopsie. — La putréfaction empêche l'examen des viscères.

Squelette. — Hémorragies intramusculaires discrètes aux deux genoux. Pas de fragilité, mais friabilité assez nette avec aspect vacuolaire assez marqué. Rien à la colonne vertébrale, ni aux parois craniennes.

Scorbut peu intense, mais net.

N° 14 (*Matricule 85*). — Mâle. Poids, 605 grammes.

Ration : 30 gr. orge moulue, 10 gr. herbe soumise à l'ébullition dans l'alcool 95° durant dix minutes, puis essorée ; addition de 5 cme d'extrait liquide.

À début, accoutumance plus difficile ; appétit s'accroissant progressivement.

Le 10^e jour. — Poids, 599 gr. Pas de troubles digestifs.

Le 14^e jour. — Élévation du poids : 620 gr. Rien à signaler.

Le 18^e jour. — Aspect moins florissant comparativement aux témoins.

Le 22^e jour. — Amaigrissement considérable, 520 gr. Délaisse la nourriture. Etat général médiocre.

Le 25^e jour. — Cachexie progressive. Selles hémorragiques.

Le 26^e jour. — Mort. 415 gr.

Autopsie. — Rien à signaler aux différents viscères, sauf quelques taches hémorragiques aux extrémités inférieures des poumons.

Squelette. — Pas d'hémorragies intramusculaires.

Os extrêmement résistants à la coupe. Tissu médullaire normal. Epiphyse ne présentant pas d'aspect vacuolaire. Bouche entièrement normale.

Colonne vertébrale et paroi crânienne extrêmement résistants. Mésentère légèrement congestionné. Gros intestin renfermant par endroits une bouillie rougeâtre.

Pas de Scorbut.

N° 15 (*Matricule 94*). — Mâle. Poids, 560 gr.

Ration : 30 gr. orge moulue, 10 gr. herbe soumise à l'ébullition dans l'alcool à 95° durant dix minutes, puis essorée ; addition de 50 cmc. d'extrait liquide.

Animal vigoureux ; appétit excellent, accoutumance immédiate au régime.

Le 10^e jour. — Poids, 575 gr. Pas de troubles digestifs ; rien d'anormal constaté.

Le 14^e jour. — Poids, 590 gr. Ration complètement absorbée.

Le 18^e jour. — Poids, 570 gr. Aspect moins favorable ; mouvements lents ; dépression marquée.

Le 22^e jour. — Poids, 475 gr. Etat général mauvais, amaigrissement. Réagit peu ; immobilisation. Selles hémorragiques. Pas d'autre symptôme.

Le 26^e jour. — Poids, 369 gr. Perte complète d'appétit. Immobilisation complète. Cachexie intense. Mort.

Autopsie immédiate. — Rien à signaler aux différents organes. Gros intestin fortement congestionné avec bouillie rougeâtre à l'intérieur. Rein pâle.

Squelette. — Pas d'état vacuolaire ; pas de fragilité anormale. Rien à la colonne vertébrale, ni aux parois craniennes.

Pas de Scorbut.

N° 16. — Mâle. Poids initial, 650 grammes.

Ration : 30 gr. orge moulue, 10 gr. herbe soumise à l'ébullition dans l'alcool à 95° durant dix minutes, puis essorée ; addition de 50 cmc. d'extrait liquide.

Animal en bonne santé ; appétit régulier. S'adapte bien au régime.

Le 10^e jour. — Poids, 625 gr. Mange moins. Amaigrissement.

Le 14^e jour. — Poids, 599 gr. Inappétence ; ne consomme presque pas sa ration ; s'amaigrit ; réagit peu.

Le 28^e jour. — Poids, 540 gr. Appétit légèrement amélioré ; consomme l'herbe à peu près complètement. Etat général assez peu favorable. S'immobilise. Marche plus difficilement.

Le 24^e jour. — Inappétence plus prononcée. Diminution très sensible du poids, 475 gr. Cachexie. Immobilité. Amaigrissement de plus en plus accentué.

Le 23^e jour. — Poids, 425 gr. Ne mange presque plus. Aggravation de l'état général. Mort.

Autopsie. — Rien aux divers organes. Os très résistants.
Pas de Scorbut.

Sauf le N° 13, chez lequel nous avons constaté l'apparition des différents symptômes scorbutiques et dont l'autopsie faite au 35^e jour nous a confirmé la présence de scorbut peu intense, mais net, les trois cobayes du lot 4 sont morts sans présenter les troubles provoqués par le scorbut, l'autopsie n'ayant pas révélé les manifestations hémorragiques et osseuses caractéristiques. Ils ont présenté des symptômes d'une intoxication différente de celle qui se caractérise par les manifestations scorbutiques.

RESUME

Ces expériences nous ayant donné toutes un résultat positif, soit par l'apparition de scorbut, soit par l'introduction de principes toxiques dans l'organisme, on peut considérer que ni la stérilisation par la vapeur d'eau, ni la stérilisation par les vapeurs d'alcool ne peuvent conserver mieux que la dessiccation les substances antiscorbutiques de la plante fraîche, possédant à un haut degré des propriétés thermostables.

Il n'est donc pas possible de dissocier par les procédés appliqués ferments solubles végétaux et facteurs antiscorbutiques.

CHAPITRE IV

Recherches sur la possibilité de la stérilisation en vase clos (procédé Rossi) pour la conser- vation des propriétés antiscorbutiques du régime type (orge et herbe d'orge).

Au cours de ces études, notre attention a été attirée sur les expériences décrites par Rossi dans son article sur le Scorbut expérimental des cobayes ; aussi avons-nous reproduit exactement la technique indiquée par cet auteur en substituant au foin de pré naturel le régime type antiscorbutique de Mouriquand et Michel - orge et herbe fraîche.

Nous donnons pour plus de précisions les détails de l'expérience exécutée par l'auteur. (1)

« Du foin de pré naturel, fauché depuis peu d'heu-
« res, est reparté entre des récipients de verre large-

(1) Archiv. di fisiologia vol. XVI, fasc. III, Mars-Mai 1918, p. 125.

« ment ouverts et est stérilisé à l'autoclave (foin A).
« Un autre foin identique de toute façon au premier,
« pour la composition et la provenance, était réparti
« dans des bocks de bière de 1 litre, qui furent ensuite
« hermétiquement fermés avec une fermeture de caout-
« chouc à pression, puis placés à l'autoclave.

« Je me suis assuré, au moyen du thermomètre à
« épanchement, que la substance contenue dans la
« partie centrale des bouteilles rejoignait la tempéra-
« ture de l'autoclave environ un quart d'heure à partir
« du moment où était atteinte la pression voulue parce
« que les bouteilles avaient été introduites dans l'appa-
« reil encore froid. »

Expériences personnelles. — Dans nos essais, la préparation de l'herbe a été réalisée en introduisant dans des flacons stérilisateurs à bouchon-canette, hermétiquement fermés par un obturateur de caoutchouc, la quantité journalière, c'est-à-dire 40 grammes d'herbe venant d'être cueillie et correspondant à la ration des quatre cobayes mis en observation. Le volume d'un flacon de 300 cmc. convient bien pour loger les 40 gr. d'herbe qui occupent la presque totalité du récipient.

Les flacons sont disposés dans l'autoclave.

Auparavant, nous avons eu soin de nous assurer, au moyen d'un thermomètre pénétrant dans le flacon et dont la tige graduée, après avoir traversé le bouchon de la bouteille, sortait par une ouverture du couvercle de l'autoclave, des différences de température existant entre l'intérieur de l'appareil donné par le manomètre et celui du flacon.

Plusieurs essais ont été pratiqués à la température de 126°, correspondant à la pression de 1 atm. 6; il a fallu dix minutes pour établir les concordances de température entre l'appareil et l'intérieur du flacon.

Nos expériences antérieures, dont le détail a été donné dans le chapitre concernant la préparation de l'herbe autoclavée, à 110° pendant dix minutes, nous dispensaient d'effectuer une épreuve témoin, analogue à celle de Rossi dans des bouteilles ouvertes, puisque nous avons opéré la stérilisation à l'air libre dans l'autoclave et réalisé de ce fait la dispersion de la substance active volatile.

De même que le recommande M. Rossi, nous avons laissé pendant une heure et demie, à la pression de 1 atm. 60, correspondant à la température de 126°, l'herbe destinée à l'alimentation de nos cobayes, prolongeant également l'exposition dans l'autoclave, pendant un quart d'heure, après l'opération, de façon à éviter le bris des flacons résultant de la production de différences trop brusques de pression.

On constate que l'herbe, soumise à ce chauffage prolongé, est devenue brune, et si l'on ouvre le flacon, une odeur assez aromatique se dégage; au fond de chaque flacon, se sépare un peu de liquide qui est ajouté soigneusement à l'herbe avant de la distribuer aux cobayes.

La ration journalière des quatre cobayes comprenait la contenance d'un flacon renfermant 40 gr. d'herbe; chacun deux recevait également par jour 30 gr. d'orge moulue grossièrement, additionnée de 40 cmc. d'eau.

Tous les trois jours avait lieu la préparation de l'herbe. Pour éviter toute altération, les flacons conte-

nant l'herbe, après ficelage du bouchon, étaient mis au frais, à l'abri de la lumière, et n'étaient débouchés qu'au moment de la préparation de la nourriture quotidienne.

Nous donnons les détails et résultats de l'expérience, commencés le 11 mai. Les animaux ont été suivis par nous tous les jours et à partir du moment où des symptômes pathologiques ont apparu avec nous par le docteur Michel, qui a bien voulu pratiquer les autopsies.

N° 1. — Mâle, jeune. Poids, 285 grammes.

Ration : 30 gr. orge, 19 gr. herbe autoclavée en vase clos à 126° durant une heure et demie.

Animal vigoureux, accoutumance facile au régime, appétit très développé.

Le 12^e jour. — Poids, 320 gr. Etat satisfaisant. Conserve son appétit. Pas de constipation.

Le 18^e jour. — Poids, 295 gr. Changement d'aspect. Amaigrissement.

Le 20^e jour. — Poids, 285 gr. Train de derrière soudé. Marche plus difficile. Aspect recroquevillé. Poil hérissé. Contracture des membres postérieurs. Délaisse la nourriture. Selles régulières.

Le 24^e jour. — Poids, 240 gr. Symptômes aggravés. Amaigrissement. Membre antérieur droit douloureux. L'animal s'immobilise. Mange peu. Pas de constipation. Poil ventral humide.

Le 29^e jour. — Poids, 210 gr. Cachexie.

Le 30^e jour. — Mort.

Autopsie. — Rien aux viscères, sauf hémorragie légère. Fracture spontanée de l'extrémité supérieure de l'humérus droit. Aspect vacuolaire des épiphyses.

Friabilité considérable ; fragilité nette.

Hémorragie interstitielle au niveau des deux genoux.

Moelle congestionnée diffluite. Colonne vertébrale assez résistante, ainsi que les parois craniennes.

Scorbut moyen.

N° 2. — Mâle, jeune. Poids, 220 grammes.

Ration : 30 gr. orge et 10 gr. herbe autoclavée en vase clos à 126°.

Animal sain. Appétit excellent. S'adapte parfaitement au régime.

Le 13^e jour. — Poids, 225 gr. Etat satisfaisant. Mange régulièrement.

Le 14^e jour. — Poids, 230 gr. Paraît moins vigoureux. Immobilité. Marche plus difficile. Pas de constipation.

Le 23^e jour. — Poids, 200 gr. Mange l'herbe, délaisse l'orge. Gonflement des membres postérieurs. Train de derrière soudé. Aspect en boule. Poil hérissé. Se déplace difficilement.

Le 29^e jour. — Poids, 155 gr. Aspect lamentable. Dépression. Mange moins. Membres postérieurs très sensibles au toucher. Se soutient difficilement sur les pattes.

Le 30^e jour. — Mort.

Autopsie. — Hémorragies interstitielles nettes, mais discrètes; friabilité et fragilité considérables. Aspect vacuolaire intense. Colonne vertébrale et parois craniennes ramollies. Rien au divers viscères. Putréfaction intense.

Scorbut intense.

N° 3. — Mâle jeune. Poids, 245 grammes.

Ration : 30 gr. orge et 10 gr. herbe autoclavée en vase clos à 126°.

Animal vigoureux. S'adapte également très bien au régime; appétit très bon. Augmentation de poids jusqu'au 14^e jour : 280 grammes.

Le 15^e jour. — Poids, 275 gr. On constate un peu d'inappétence.

Le 18^e jour. — Poids, 260 gr. Mange moins. Aspect triste de l'animal. Train de derrière soudé. Marche difficile. Aspect recroquevillé. Poil hérissé. Absence de constipation.

Le 23^e jour. — Poids, 220 gr. Aggravation de tous les symptômes. Amaigrissement. Membres postérieurs douloureux au toucher. Marche rampante. Poil ventral mouillé. Délaisse sa nourriture. N'est pas constipé.

Le 28^e jour. — Etat cachectique prononcé. Mort.

Autopsie. — Hémorragies interstitielles extrêmement accentuées aux quatre membres. Friabilité et fragilité considéra-

bles. Aspect vacuolaire très marqué. Colonne vertébrale et parois craniennes ramollies.

Rien aux divers viscères.

Scorbut très intense.

N° 4. — Mâle, jeune. Poids, 180 grammes.

Ration : 30 gr. orge et 10 gr. herbe autoclavée en vase clos à 126°.

Animal en très bon état. S'adapte facilement au régime. Augmentation de poids jusqu'au 13^e jour.

Le 14^e jour. — Poids, 200 grammes. Inappétence légère.

Le 18^e jour. — Poids, 195 gr. Inappétence plus marquée. Changement d'aspect. Paraît moins vigoureux. Pas de constipation. Membres postérieurs congestionnés, douloureux au toucher.

Le 23^e jour. — Poids, 170 gr. Appétit considérablement diminué. Marche difficile. Immobilité. Hérissément du poil. Membres postérieurs très sensibles à la pression des doigts. Poil ventral humide. Absence de constipation.

Le 27^e jour. — Dépression totale : cachexie intense. Mort.

Autopsie. — Rien aux différents organes, sauf une légère hémorragie au poumon droit. Cœcum à peu près vide.

Squelette. — Friabilité extrême, fragilité considérable. Aspect vacuolaire très marqué. Hémorragie interstitielle considérable surtout à droite. Petite hémorragie au niveau du coude gauche. Les poignets sont également très vascularisés.

Colonne vertébrale extrêmement ramollie. Paroi crânienne s'écrasant sous le doigt.

Résultats de l'expérience. — Nous avons obtenu chez les quatre cobayes un scorbut expérimental typique, à gravité extrêmement accusée chez les N°s 2, 3, 4 présentant des symptômes caractéristiques tels que putréfaction intense chez le N° 2 et fracture spontanée chez le N° 1

L'évolution de la maladie a été respectivement de vingt-huit à trente jours. Nos résultats sont donc tout

à fait différents de ceux de Rossi qui avaient obtenu la mort de tous les cobayes nourris avec le lot A après avoir présenté tous les phénomènes morbides du Scorbut expérimental, tandis que ceux nourris avec le foin B ne présentaient aucun trouble et étaient vigoureux après deux mois d'expérience.

Sans critiquer les expériences de Rossi faites en utilisant une ration comportant une quantité assez abondante de foin coupé, nous ferons remarquer que la technique de Rossi, identiquement suivie par nous en employant le régime type de Weill et Mouriquand : 30 gr. d'orge moulue et 10 gr. d'herbe d'orge fraîche autoclavée en vase clos à 126° pendant une heure et demie ne nous a pas permis de conserver l'intégrité de la substance volatile, si l'on suppose que les vitamines sont des substances volatiles ; il serait donc plus logique d'admettre qu'elles sont essentiellement thermolabiles surtout lorsqu'elles sont portées à 126° dans des récipients clos et c'est la conclusion à laquelle nous sommes arrivés, lorsque nous expérimentions dans les conditions fixées avec le régime institué par les professeurs Weill et Mouriquand.

CHAPITRE V

Études sur le mécanisme de production de la fragilité osseuse au cours du scorbut expérimental.

Depuis la connaissance du scorbut, on a toujours été frappé par l'intensité des signes osseux. En outre, la maladie de Barlow est un syndrome uniquement osseux (pseudo-paraplégique). Toutes les recherches sur le scorbut expérimental ont établi la constance encore plus fréquente des lésions osseuses qui peuvent se résumer ainsi : friabilité, fragilité, aspect vacuolaire, fracture spontanée parfois même pendant la vie.

Pitz a essayé d'étudier l'action des sels de calcium dans la pathogénie du scorbut expérimental; mais on ne peut pas tabler sur ses expériences, en raison de la complexité du régime qu'il a employé.

Toutes les constatations d'ordre clinique et anatomi-

que ont de suite fait penser à un trouble possible du calcium que nous avons essayé d'étudier.

Dans ce but, nous avons entrepris l'analyse des os des cobayes soumis aux différents régimes, que nous avons classés d'après nos expériences en : 1° os d'animaux témoins ; 2° os d'animaux nettement scorbutiques ; 3° os d'animaux anormaux ne présentant pas de scorbut.

Nous avons prélevé les membres antérieurs et postérieurs de chaque sujet qui ont été conservés dans une solution salée et formolée.

Avant d'opérer les différents dosages, les os débarrassés de toute trace de matière organique étrangère ont été placés dans la cloche à vide pendant trois jours. Au sortir du vide, le poids de l'os a été déterminé et noté = poids de l'os sec.

Chaque os disposé dans une capsule de platine a été calciné au four à chauffage électrique jusqu'à obtention de cendres blanches.

Après refroidissement sous dessiccateur, le poids des cendres a été enregistré.

Puis, nous avons procédé sur les cendres au dosage du calcium en suivant la technique de Neumann :

Les cendres sont traitées par 15 cmc. d' AzO^3H au $1/5^\circ$. On étend cette solution de trois fois son volume d'eau. On porte à l'ébullition dix minutes, on sature d'ammoniaque et après addition d'oxalate d'ammoniaque, on chauffe au bain-marie pendant une heure. Alors tout le calcium se sépare à l'état d'oxalate.

On filtre en décantant sans entraîner le précipité, on ne fait passer que le liquide clair sur un petit filtre sans cendres de 3 cm. de rayon, on lave à l'eau chaude

en décantant le précipité resté dans le ballon et en passant le liquide sur le filtre. On lave jusqu'à ce qu'un essai de filtrat après saturation par AzO^3H sans acide nitreux et chauffé ne décolore plus une goutte de solution de permanganate. Par cet essai, on peut s'assurer de l'absence complète d'acide nitreux et d'acide oxalique. Une fois le lavage fini, on place sur le ballon l'entonnoir avec le filtre et on le dissout sur le filtre dans un excès de AzO^3H sans acide nitreux le peu de précipité qui a pu y être entraîné. On lave cinq ou six fois à l'eau chaude. Alors on chauffe vers 80° , c'est-à-dire quand les bulles de gaz commencent à se dégager. Puis on fait tomber un nombre de centimètres cubes de solution de permanganate de potasse N/10^e, suffisant pour amener une coloration rouge persistante.

Calcul. — Soit n le nombre de centimètres cubes de permanganate N/10 employé; il suffit de multiplier ce nombre par 0 gr. 0020 pour avoir la quantité de calcium et par 0 gr. 0028 pour avoir la quantité de chaux.

Les tableaux annexés donnent le détail des résultats que nous avons obtenus. En comparant les moyennes que nous avons établies, se rapportant à chacune des trois catégories d'animaux, on peut se rendre compte que les chiffres concernant soit les poids des cendres, soit les poids de chaux rapportés aux cendres, ou à l'os sec. pour cent, sont à peu près semblables et n'offrent que de très légères différences.

Cobayes Témoins

Cobaye	MEMBRE	PROPORTIONS		
			Cendres p. 100 d'os sec	Ca O
N° 2 (Antérieur).	Os	= 0 gr. 445	60,7	$\left\{ \begin{array}{l} \text{p}^r 100 \text{ de cendres} = 50 \\ \text{p}^r 100 \text{ d'os sec} = 30 \end{array} \right.$
	Cendres	= 0 gr. 270		
	Chaux	= 0 gr. 135		
N° 2 (Postérieur).	Os	= 0 gr. 760	65,2	$\left\{ \begin{array}{l} \text{p}^r 100 \text{ de cendres} = 46 \\ \text{p}^r 100 \text{ d'os sec} = 27 \end{array} \right.$
	Cendres	= 0 gr. 460		
	Chaux	= 0 gr. 242		
N° 3 (Antérieur).	Os	= 0 gr. 913	50,7	$\left\{ \begin{array}{l} \text{p}^r 100 \text{ de cendres} = 49 \\ \text{p}^r 100 \text{ d'os sec} = 28 \end{array} \right.$
	Cendres	= 0 g. 5275		
	Chaux	= 0 gr. 26		
N° 3 (Postérieur).	Os	= 1 gr. 030	61 »	$\left\{ \begin{array}{l} \text{p}^r 100 \text{ de cendres} = 48 \\ \text{p}^r 100 \text{ d'os sec} = 30 \end{array} \right.$
	Cendres	= 0 gr. 633		
	Chaux	= 0 gr. 34		
Cendres		Moyenne	= 59,4 %	
Chaux pour <i>cendres</i> ..		—	= 48 %	
Chaux pour <i>os sec</i>		—	= 28,7 %	

Anormaux nettement scorbutiques

Cobaye	MEMBRE	PROPORTIONS		
		Cendres p. 100 d'os sec	Ca O	
N° 6 (Antérieur).	Os	= 0 gr. 350	62	$\left\{ \begin{array}{l} \text{p}^r 100 \text{ de cendres} = 48 \\ \text{p}^r 100 \text{ d'os sec} = 30 \end{array} \right.$
	Cendres	= 0 gr. 229		
	Chaux	= 0 gr. 107		
N° 7 (Postérieur).	Os	= 0 gr. 50	56	$\left\{ \begin{array}{l} \text{p}^r 100 \text{ de cendres} = 45 \\ \text{p}^r 100 \text{ d'os sec} = 25 \end{array} \right.$
	Cendres	= 0 gr. 289		
	Chaux	= 0 gr. 128		
N° 8 (Postérieur).	Os	= 0 gr. 55	60,4	$\left\{ \begin{array}{l} \text{p}^r 100 \text{ de cendres} = 48 \\ \text{p}^r 100 \text{ d'os sec} = 30 \end{array} \right.$
	Cendres	= 0 gr. 35		
	Chaux	= 0 gr. 168		
N° 10 (Postérieur)	Os	= 0 gr. 541	41,8	$\left\{ \begin{array}{l} \text{p}^r 100 \text{ de cendres} = 40 \\ \text{p}^r 100 \text{ d'os sec} = 29 \end{array} \right.$
	Cendres	= 0 gr. 325		
	Chaux	= 0 gr. 162		
N° 11 (Postérieur)	Os	= 0 gr. 81	60,4	$\left\{ \begin{array}{l} \text{p}^r 100 \text{ de cendres} = 47 \\ \text{p}^r 100 \text{ d'os sec} = 28 \end{array} \right.$
	Cendres	= 0 gr. 49		
	Chaux	= 0 gr. 233		
N° 12 (Postérieur)	Os	= 0 gr. 705	61,1	$\left\{ \begin{array}{l} \text{p}^r 100 \text{ de cendres} = 44 \\ \text{p}^r 100 \text{ d'os sec} = 26 \end{array} \right.$
	Cendres	= 0 gr. 424		
	Chaux	= 0 gr. 189		
N° 13 (Postérieur)	Os	= 1 gr. 36	59,4	$\left\{ \begin{array}{l} \text{p}^r 100 \text{ de cendres} = 46 \\ \text{p}^r 100 \text{ d'os sec} = 27 \end{array} \right.$
	Cendres	= 0 gr. 81		
	Chaux	= 0 gr. 38		
N° 13 (Antérieur)	Os	= 0 gr. 905	61,3	$\left\{ \begin{array}{l} \text{p}^r 100 \text{ de cendres} = 49 \\ \text{p}^r 100 \text{ d'os sec} = 30 \end{array} \right.$
	Cendres	= 0 gr. 555		
	Chaux	= 0 gr. 274		

Cendres Moyenne = 57,8 %

Chaux pour cendres.. — = 45,2 %

Chaux pour os sec ... — = 28,0 %

Anormaux

Ne présentant pas de scorbut

Cobaye	MEMBRE	PROPORTIONS		
			Cendres p. 100 d'Os sec	Ca O
N° 5	(Antérieur)	Os = 1 gr. 012	62	$\left\{ \begin{array}{l} \text{p}^r 100 \text{ de cendres} = 50 \\ \text{p}^r 100 \text{ d'os sec} = 26 \end{array} \right.$
		Cendres = 0 gr. 525		
		Chaux = 0 gr. 267		
N° 5	(Postérieur)	Os = 1 gr. 055	62	$\left\{ \begin{array}{l} \text{p}^r 100 \text{ de cendres} = 48 \\ \text{p}^r 100 \text{ d'os sec} = 33 \end{array} \right.$
		Cendres = 0 gr. 661		
		Chaux = 0 gr. 320		
N° 14	(Postérieur)	Os = 1 gr. 34	58	$\left\{ \begin{array}{l} \text{p}^r 100 \text{ de cendres} = 35,4 \\ \text{p}^r 100 \text{ d'os sec} = 20 \end{array} \right.$
		Cendres = 0 gr. 79		
		Chaux = 0 gr. 28		
N° 15	(Antérieur)	Os = 0 gr. 350	61,1	$\left\{ \begin{array}{l} \text{p}^r 100 \text{ de cendres} = 44 \\ \text{p}^r 100 \text{ d'os sec} = 28 \end{array} \right.$
		Cendres = 0 gr. 215		
		Chaux = 0 gr. 100		
N° 16	(Postérieur)	Os = 0 gr. 83	63,1	$\left\{ \begin{array}{l} \text{p}^r 100 \text{ de cendres} = 49 \\ \text{p}^r 100 \text{ d'os sec} = 32 \end{array} \right.$
		Cendres = 0 gr. 525		
		Chaux = 0 gr. 266		

Cendres	Moyenne	= 61,2 %
Chaux pour cendres..	—	= 45,2 %
Chaux pour os sec ..	—	= 27,4 %

A la suite de ces résultats et de ceux obtenus par MM. Mouriquand et Michel, nous avons communiqué à la « Société de Biologie » (section lyonnaise, séance du 4 juillet 1921) la note suivante :

**Sur l'absence de troubles électifs du métabolisme
du calcium osseux dans le scorbut expérimental**

par MM. A. Morel, G. Mouriquand,
P. Michel et L. Thévenon

Chaque fois que l'on pratique l'autopsie d'un cobaye ayant succombé aux manifestations ostéo-hémorragiques qu'entraîne un régime dépourvu de substance anti-scorbutique, on est frappé par l'intensité des altérations du squelette (friabilité, fragilité, aspect vacuolaire des épiphyses) pouvant même aller jusqu'aux fractures spontanées. Notre pensée première, appuyée simplement sur les faits cliniques et anatomiques, fut qu'il s'agissait probablement d'un trouble portant électivement sur le métabolisme du calcium osseux. Nous cherchâmes à vérifier cette hypothèse.

Les radiographies pratiquées dans le laboratoire de M. le Professeur Cluzet n'étaient pas favorables à l'idée d'une décalcification importante. Dans le but de préciser si cette déminéralisation portait électivement sur le calcium, nous avons entrepris une série de dosages des cendres et de la chaux dans les os secs, et ce sont ces résultats que nous apportons.

I^{er} Groupe. — Cobayes témoins: orge et herbe d'orge fraîche (4 sujets) : pour 100 d'os sec, cendres, 56,37; chaux, 25,9.

II^e Groupe. — Cobayes cliniquement et anatomiquement scorbutiques: orge et foin (2 sujets; orge et herbe d'orge stérilisée 10 minutes à 110° en présence de vapeur d'eau (4 sujets); orge et herbe d'orge stérilisée 1 h. 1/2 à 126° en vase clos (4 sujets); pour 100 d'os sec, cendres, 58,17; chaux, 26,9.

III^e Groupe. — Cobayes morts d'intoxication alimentaire

sans lésions scorbutiques cliniques ni anatomiques, orge et herbe d'orge stérilisée par les vapeurs d'alcool bouillant et additionnée du liquide alcoolique extrait (4 sujets), pour 100 d'os sec; cendres, 59,21; chaux, 26,85.

IV^e Groupe. — Un cobaye à l'inanition absolue a donné les chiffres suivants : pour 100 d'os sec, cendres, 51,4; chaux, 25,7.

Ces tableaux montrent nettement que les altérations osseuses du scorbut expérimental ne sont pas fonction d'un appauvrissement électif du squelette en chaux. Pour les interpréter, il est nécessaire de pratiquer des examens histologiques, qui sont en cours d'exécution.

CONCLUSIONS

Un intérêt considérable s'attachait à la recherche d'un procédé de stérilisation des plantes fraîches, qui eut permis de conserver leurs propriétés antiscorbutiques, comme les procédés Bourquelot et Perrot-Goris conservent les propriétés thérapeutiques ; de plus, il pouvait y avoir là un moyen de dissociation des facteurs antiscorbutiques et des ferments solubles végétaux.

Nos recherches qui ont porté sur l'herbe verte d'orge, dont les travaux de Weill, Mouriquand et Michel ont montré le pouvoir antiscorbutique, lorsqu'on l'ajoute, dans les conditions que ces expérimentateurs ont précisées, à des graines d'orge complètes, nous ont permis de constater :

1° Que la stérilisation de cette herbe d'orge par la vapeur d'eau à 110°, suivie d'une dessiccation à l'air libre, lui fait perdre tout pouvoir antiscorbutique et, par suite, que la dessiccation qui, comme l'ont établi les travaux de Weill, Mouriquand et Michel, fait disparaître les facteurs antiscorbutiques, n'agit pas par un dédoublement fermentatif, dont on pouvait supposer le rôle.

2° Que la stérilisation par la vapeur d'alcool au voisinage de 80° accompagnée de l'addition de l'extrait alcoolique, communique à l'herbe des propriétés toxiques, activité antiscorbutique.

qui ne permettent pas de juger de la conservation d'une

3° Que la clôture des récipients ne permet pas plus que leur ouverture de stériliser à une température de 126° cette herbe d'orge avec conservation du pouvoir antiscorbutique et que l'intérêt du procédé indiqué par Rossi à la suite de ses expériences sur le foin de pré naturel n'est pas général.

4° Que les déformations et fragilités osseuses qui sont un des symptômes essentiels du scorbut expérimental ne s'accompagnent pas d'une diminution élective des éléments minéraux de l'os, en particulier du calcium.

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE :

ALBERT MOREL.

Vu :

LE DOYEN,

JEAN LEPINE.

Vu et permis d'imprimer

Lyon, le 30 juin 1921

LE REÇTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
P. JOUBIN.

BIBLIOGRAPHIE

- GORIS. — Rôle des Glucosides chez les Végétaux (*Bulletin des Sc. Pharmacologiques*, 1915, p. 99).
- Récolte et Culture des plantes médicinales (*Bulletin des Sc. Pharmacologiques*, 1915, p. 56).
- BRISSEMORET. — Essai sur les Préparations galéniques (Bou-langer-Dausse).
- GORIS. — A propos de la Noix de Kola fraîche (*Bull. des Sc. Pharmacologiques*, 1918, p. 87).
- HÉRISSEY. — Recherches sur l'Emulsine (*Thèse Doct. Phar-macie*, 1899).
- FICHTENHOLTZ. — Recherches relatives à l'action retardatrice de quelques composés sur l'hydrolyse des Glucosides par l'Emulsine (*Journal de Pharmacie et de Chimie*, 1909, tome XXX, p. 199).
- BOURQUELOT. — Ferments solubles oxydants et médicaments (*J. Pharmacie et Chimie*, 1896, p. 484).
- Congrès International de Médecine, Paris, août 1899 (*Bull. Sc. Pharm.*, p. 523 et 531).
- Congrès International de Médecine, Paris, août 1899 (*Bull. Sc. Pharm.*, p. 495).
- GORIS et ARNOULT. — Conservation et Stérilisation des Noix de Kola fraîches (*Bull. Sc. Pharm.*, 1907, p. 160).

GORIS et CHEVALIER. — Action pharmaco-dynamique de la Kolatine (*Bull. Sc. Pharm.*, 1907, p. 648).

PERROT et GORIS. — Stérilisation des plantes médicinales dans ses rapports avec leur activité thérapeutique (*Bull. Sc. Pharm.*, 1909, p. 381).

CHEVALIER. — Sur la détermination physiologique de la valeur des préparations galéniques de digitale (*Bull. Sc. Pharm.* 1910, p. 432-194).

R. DUBOIS. — Atmolyse et Atmolyseur. Produits pharmaceutiques atmolysés (*C. R. A. S.*, mars 1911).

G. BERTRAND. — Sur le Latex de l'Arbre à laque (*C. R. A. S.*, 1894, p. 1215).

— Sur la laccase et sur le pouvoir oxydant de cette diastase (*C. R. A. S.*, 1895, p. 266).

— Sur la Recherche et la présence^e de la Laccase dans les Végétaux (*C. R. A. S.*, 1895).

MOURIQUAND et MICHEL. — *Journal Médical français*, avril 1920.

D^r MICHEL. — La carence alimentaire (*Thèse de Médecine*, Lyon, 1916).

ROSSI. — Archivio di Fisiologia., vol. XVI, fasc. III, IV, mars-mai 1918, p. 125 (*Sullo Scorbuto sperimentale*).

BOTTAZI. — Problème des Vitamines et des Avitaminoses.

G. BERTRAND. — Sur une nouvelle oxydase ou ferment soluble d'origine végétale (*C. R. A. S.*, 1896).

SÉE (Pierre). — Oxydases (*Thèse Doct. Méd.*, Paris, 1905).

BOURQUELOT et BRIEDEL. — Action de l'Emulsine sur la Gentiopierine en solution dans divers liquides organiques neutres (*C. R. A. S.*, 1912, p. 1259).

A. MOREL, G. MOURIQUAND, MICHEL et THÉVENON. — *Section Lyonnaise de la Soc. de Biologie*, 4 juillet 1921 : « Sur l'absence de troubles électifs du métabolisme du calcium osseux dans le Scorbut expérimental. »

WEILL et MOURIQUAND. — Les Maladies alimentaires par carence (*Lyon Médical*, 1914).

- Recherches sur les maladies alimentaires par carence
(*Soc. Méd. des Hôpitaux de Paris*, 31 juillet 1914).
- Note pour servir à l'étude des troubles provoqués par
une alimentation exclusive (*Soc. Méd. Hôp. de Lyon*,
1914).
- L'Alimentation exclusive et la carence alimentaire
(*C. R. Soc. Biologie*, 22 janvier 1916).

— LYON —
IMPRIMERIE EXPRESS
46, rue de la Charité

